

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
4. September 2003 (04.09.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 03/072096 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **A61K 31/194**,  
31/196, 31/4985, 31/519

02120 (US). **MOSER, Rudolf** [CH/CH]; Lahnhalde  
11, CH-8200 Schaffhausen (CH). **ULMANN, Martin**  
[CH/CH]; Steigstrasse 36, CH-8447 Dachsen (CH).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP03/01848

(74) **Gemeinsamer Vertreter: MERCK EPROVA AG**; A.  
Furger, Im Laternenacker 5, CH-8200 Schaffhausen (CH).

(22) Internationales Anmeldedatum:  
24. Februar 2003 (24.02.2003)

(81) **Bestimmungsstaaten (national):** AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,  
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,  
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,  
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,  
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,  
SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,  
UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
337/02 26. Februar 2002 (26.02.2002) CH

(71) **Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): MERCK EPROVA AG** [CH/CH]; A. Furger, Im Lat-  
ernenacker 5, CH-8200 Schaffhausen (CH).

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),  
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,  
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,  
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,  
PT, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI,  
CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) **Erfinder; und**

(75) **Erfinder/Anmelder (nur für US): MUELLER, Thomas,**  
F. [DE/US]; 24 Worthington Street #1, Boston, MA

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) **Title:** USE OF FOLATES FOR PRODUCING A PREPARATION SUITABLE FOR PREVENTING AND TREATING  
INFLAMMATION AND DISEASES ASSOCIATED WITH INFLAMMATION, ESPECIALLY FOR INFLUENCING THE  
INFLAMMATION MARKERS CRP AND SAA

(54) **Bezeichnung:** VERWENDUNG VON FOLATEN ZUR HERSTELLUNG EINER ZUBEREITUNG GEEIGNET ZUR VOR-  
BEUGUNG UND BEHANDLUNG VON ENTZÜNDUNGEN UND ENTZÜNDUNGSASSOZIIERTER KRANKHEITEN, IM  
SPEZIELLEN ZUR BEEINFLUSSUNG DER INFLAMMATIONSMARKER CRP UND SAA

(57) **Abstract:** The invention relates to the use of folates for producing a pharmaceutical preparation suitable for preventing and  
treating inflammation and diseases associated with inflammation, especially for influencing the inflammation markers C-reactive  
protein (CRP) and serum amyloid A protein (SAA). Clinical fields of application are all anomalies of the CRP and SAA level.  
The invention also relates to pharmaceutical preparations for preventing and treating inflammation and diseases associated with  
inflammation, especially for influencing the CRP and SAA level, said preparations being characterised in that they contain at least  
one compound as an active ingredient, selected from the group comprising pteric acid monoglutamate (folic acid), dihydrofolic acid,  
5-formyltetrahydrofolic acid, 5-methyltetrahydrofolic acid, 5,10-methylenetetrahydrofolic acid, 5,10-methenyltetrahydrofolic acid,  
10-formyltetrahydrofolic acid or tetrahydrofolic acid, the polyglutamates thereof, the optical isomers thereof, especially the optical,  
purely natural isomers thereof but also mixtures of optical isomers, especially racemic mixtures, the pharmaceutically acceptable  
salts thereof, and pharmaceutically acceptable active ingredients and auxiliary agents.

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung bezieht sich auf die Verwendung von Folaten zur Herstellung einer pharmazeutischen Zu-  
bereitung geeignet zur Vorbeugung und Behandlung von Entzündungen und entzündungsassoziierten Krankheiten, im Speziellen zur  
Beeinflussung der Entzündungsmarker C-reaktives Protein (CRP) und Serum Amyloid A Protein (SAA). Klinische Anwendungs-  
gebiete sind alle Anomalien des CRP- und SAA-Spiegels. Ebenfalls betrifft die Erfindung pharmazeutische Zubereitungen zur Vor-  
beugung und Behandlung von Entzündungen und entzündungsassoziierten Krankheiten, im Speziellen zur Beeinflussung des CRP-  
und SAA-Spiegels, dadurch gekennzeichnet, dass sie als aktive Wirksubstanz mindestens eine Verbindung beinhaltet, die ausgewählt  
ist aus der Gruppe bestehend aus Pterinsäure-Monoglutamat (Folsäure), Dihydrofolsäure, 5-Formyltetrahydrofolsäure, 5-Methyl-  
tetrahydrofolsäure, 5,10-Methylenetetrahydrofolsäure, 5,10-Methenyltetrahydrofolsäure, 10-Formyl-tetrahydrofolsäure oder Tetra-  
hydrofolsäure, deren Polyglutamate, deren optische Isomeren, im Speziellen deren optische reine natürliche Isomeren, aber auch  
Mischungen von optischen Isomeren, insbesondere racemische Mischungen, sowie auch deren pharmazeutisch verträgliche Salze,  
zusammen mit pharmazeutisch verträglichen Wirk- und Hilfsstoffen.



WO 03/072096 A1



**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

**Verwendung von Folaten zur Herstellung einer Zubereitung geeignet zur Vorbeugung und Behandlung von Entzündungen und entzündungsassoziierter Krankheiten, im Speziellen zur Beeinflussung der Inflammationsmarker CRP und SAA**

5

Diese Erfindung bezieht sich auf die Verwendung von Folaten zur Herstellung einer Zubereitung geeignet zur Vorbeugung und Behandlung von Entzündungen und entzündungsassoziierter Krankheiten, im Speziellen zur Beeinflussung des Spiegels der Entzündungsmarker C-reaktives Protein (CRP) und Serum Amyloid A Protein (SAA). Anwendungsgebiete sind alle Anomalien des CRP- und SAA-Spiegels.

Im vorliegenden Text bezieht sich der Begriff Folate sowohl auf Pteroinsäure-Monoglutamat (Folsäure), wie auch auf reduzierte Formen wie Dihydrofolate und Tetrahydrofolate wie z.B. 5-Formyltetrahydrofolsäure, 5-Methyltetrahydrofolsäure, 5,10-Methylentetrahydrofolsäure, 5,10-Methenyltetrahydrofolsäure, 10-Formyltetrahydrofolsäure und Tetrahydrofolsäure, deren Polyglutamate, deren optische Isomeren, im Speziellen deren optische reine natürliche Isomeren, aber auch Mischungen von optischen Isomeren, insbesondere racemische Mischungen, sowie auch deren pharmazeutisch verträgliche Salze.

Folate sind wichtige Cofaktoren in C1-Übertragungsreaktionen und sind beteiligt in Schlüsselsynthesen in menschlichen, tierischen und pflanzlichen Zellen, im Speziellen in der DNA-Biosynthese und im Methylierungskreislauf. Als Arzneimittel wurden Folate bisher vorwiegend als Calcium-Salz der 5-Formyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure (Leucovorin) oder der 5-Methyl-5,6,7,8-tetrahydrofolsäure (Metafolin) verwendet zur Behandlung von megaloblastischer Folsäure-Anämie, als Antidot zur Verstärkung der Verträglichkeit von Fol-

säure-Antagonisten, speziell von Aminopterin und Methotrexat in der Krebstherapie ("Antifolate rescue"), zur Verstärkung des therapeutischen Effektes von fluorierten Pyrimidinen und der Behandlung von Autoimmunkrankheiten wie Psoriasis, zur Verstärkung der Verträglichkeit von bestimmten Antiparasitika, etwa Trimethoprim-Sulfamethoxazol sowie zur Verminderung der Toxizität von Dideazatetrahydrofolaten in der Chemotherapie.

Entzündungen induzieren über pro-inflammatorische Cytokine die Synthese von sogenannten Akute-Phase Proteinen. Entgegen des Namens tritt eine Akute-Phase Antwort allerdings nicht nur bei akuten, sondern auch bei chronisch entzündlichen Prozessen auf. Deutlich erhöhte zirkulierende Akute-Phase Parameter findet man bei Infektionen, Traumata, Infarkten, Arthritiden, Abstossungsreaktionen von Organtransplantaten und auch bei Neoplasmen. Des weiteren können kardio- und cerebrovaskuläre Erkrankungen wie auch Adipositas, Diabetes mellitus, Urämie, Hypertonie, starke körperliche Belastung, Substitution von Hormonen, Schlafstörungen, Alkoholabusus, Morbus Alzheimer oder Depressionen, Autoimmunerkrankungen sowie immunologische Krankheitsbilder mit einer erhöhten Akute-Phase Antwort einhergehen. Neben den zugrundeliegenden Erkrankungen können zusätzlich auch die therapeutischen Massnahmen mit einer Entzündungsantwort einhergehen, wie z.B. Hämodialyseverfahren, Lipidapheresebehandlungen, Kathetherdilatationen oder Bestrahlungstherapien [Kushner I, Cleveland Clin J Med 2001; 68 (6): 535-37; Malle et al, Eur J Clin Invest 1996; 26: 427-35; Ridker et al, N Engl J Med 2000; 342: 836-43; Greaves et al, Trends in Immunology 2002; 23 (11): 535-41; Wick et al, Trends in Immunology 2001; 22 (12): 665-9]. Die Höhe der Entzündungsmarker spiegelt nicht nur das Vorliegen, sondern auch die Schwere der Entzündungsreaktion wider, hat prognostische Bedeutung und zeigt im Verlauf das Ansprechen auf die Therapie an. Optimierte Testverfahren haben in den letzten Jahren die diagnostische Wertigkeit von Akute-Phase

Markern zur Erfassung gerade der chronisch inflammatorischen Last in den Vordergrund gerückt [Ridker P, Circulation 2001; 103 (13): 1813-18; Patel et al, Cleveland Clin J Med 2001; 68 (6): 521-34]. Insbesondere die Arteriosklerose wird zunehmend als inflammatorische Erkrankung aufgefasst und erhöhte Entzündungsmarker sind wesentliche Risikofaktoren für cardio- und cerebrovaskuläre Ereignisse [Ross R, N Engl J Med 1999; 340: 115-25, Ridker et al, N Engl J Med 1997; 336: 973-9, Haverkate et al, for the European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group, The Lancet 1997; 349: 462-6; Ridker et al, N Engl J Med 2002; 347 (20): 1557-65].

10

C-reaktives Protein (CRP) ist ein Eiweiss, das in der Leber gebildet wird und durch seinen schnellen (innerhalb von 12 Stunden) und extrem hohen (bis zu 2'000-fach) Anstieg zu den klassischen Akute-Phase Proteinen gehört [Malle et al, Eur J Clin Invest 1996; 26: 427-35]. Funktionell besitzt es sowohl pro- als auch anti-inflammatorische Eigenschaften. Es bindet eingedrungene Fremdstoffe, aktiviert Makrophagen und das Komplementsystem, induziert Cytokin-freisetzung und reguliert Leukozytenakkumulation und Adhäsion [Patel et al, Cleveland Clin J Med 2001; 68: 521-34; Greaves et al, Trends in Immunology 2002; 23 (11): 535-41]. Zusätzlich zeigen aktuelle Untersuchungen, dass CRP auch direkt pro-inflammatorisch auf humane Endothelzellen wirkt [Pasceri et al, Circulation 2000; 102: 2165-8]. Primär ist es der angeborenen, unspezifischen Immunantwort zuzuordnen. Der Referenz-/Normalwert von CRP im Plasma liegt bei Werten bis 2 mg/l (Erwachsene und Kinder), wobei je nach verwendetem Test und Untersuchungsgruppe unterschiedliche Normalbereiche angegeben werden.

25

Da die Halbwertszeit mit 24 Stunden relativ kurz ist, machen sich Veränderungen im entzündlichen Geschehen direkt in der CRP-Konzentration bemerkbar. CRP steigt bei bakteriellen Entzündungen am schnellsten (innerhalb weniger

Stunden) und am stärksten an. Bei viralen oder lokalen Infektionen und chronischen Entzündungen erfolgt ein geringerer Anstieg des CRP. Aufgrund der sehr sensitiven modernen Assays für CRP (high sensitive CRP) eignet sich CRP sehr gut für Verlaufsbeobachtungen von entzündlichen Erkrankungen

5 [Roberts et al, Clin Chem 2001; 47: 418-25]. Bei erfolgreicher Antibiotika-Therapie fällt es schnell wieder ab und zeigt intra-individuell bei fehlender Entzündungsaktivität eine sehr geringe Variabilität sowohl diurnal als auch im Langzeitverlauf [Ockene et al, Clin Chem 2001; 47: 444-50]. Schon geringe Erhöhungen von CRP ohne klinische Zeichen einer Entzündung korrelieren mit

10 einer deutlich erhöhten kardio- und cerebrovaskulären Morbidität und Mortalität [Ridker et al, N Engl J Med 1997; 336: 973-9; Haverkate et al, for the European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group, The Lancet 1997; 349: 462-6; Harris et al, Am J Med 1999; 106: 506-12; Ridker et al, N Engl J Med 2002; 347 (20): 1557-65]. Aspirin scheint in diesem Zusammenhang seine günstige Wirkung auch durch die anti-inflammatorische Aktivität zu entfalten und ein leicht erhöhtes CRP ist ein wichtiger Marker für die Notwendigkeit dieser Therapie [Ridker et al, N Engl J Med 1997; 336: 973-9]. Inwieweit CRP dabei nur Surrogatmarker oder auch etiologisch wichtiger Faktor ist, ist noch unklar [Graeves et al, Trends in Immunology

15 2002; 23 (11): 535-41]. Der kürzlich beschriebene CRP-senkende Effekt von Statinen unterstützt die Schlüsselrolle der Inflammation bei der Arteriosklerose und die Senkung selbst minimal erhöhter CRP-Spiegel ist nach diesen aktuellen Studien vergleichbar wichtig wie die Cholesterinsenkung [Albert et al, for the PRINCE Investigators, JAMA 2001; 286 (1): 64-70; Ridker et al, N Engl J

20 Med 2001; 344 (26): 1959-65].

25

Erhöhungen auf 10-100 mg/l zeigen leicht bis mässig, in der Regel akute entzündliche Prozesse oder solche geringer Ausdehnung an. Dazu gehören die lokale bakterielle Infektion, unkomplizierte Zystitis, Bronchitis, Traumen, postoperative Entzündungsreaktion, Unfall, Myokardinfarkt, Tuberkulose oder Sar-

koidose. Werte von 100 mg/l und mehr bei akuten Krankheitsgeschehen sprechen für hohe und/oder ausgedehnte Entzündungsaktivität. Dazu zählen Sepsis, größere Traumen, bakterielle Infektionen, metastasierende Tumoren, aktive rheumatoide Arthritis, seronegative Spondylarthritis, Immunvaskulitis, Polymyalgia rheumatica, Morbus Crohn oder tiefe Venenthrombose.

Serum amyloid A (SAA) Protein besteht aus einer Familie von polymorphen Apolipoproteinen, die hauptsächlich in der Leber synthetisiert werden. SAA ist ein sehr empfindlicher Marker der Akute-Phase Antwort und reagiert bei Entzündung, Nekrose, Abstossungsreaktion und auch Tumor-Aussaat. SAA ist ein  $\alpha$ 1-Globulin bestehend aus einer einfachen Polypeptidkette mit einem Molekulargewicht zwischen 11'500 und 14'000 Dalton und zirkuliert im Blut an HDL gebunden [Malle et al, Eur J Clin Invest 1996; 26: 427-35].

Der Referenz-/Normalwert von SAA im Plasma liegt bei Werten bis 1 mg/l. Bei Entzündungen steigt die SAA-Konzentration innerhalb von wenigen Stunden auf Werte bis 2000 mg/l. In der Regel verlaufen CRP- und SAA-Werte parallel, allerdings scheint SAA etwas früher und dynamischer zu reagieren und auch höher anzusteigen als CRP [Gabay et al, N Engl J Med 1999; 340: 448-54; Liuzzo et al, N Engl J Med 1994; 331: 417-24; Wilkins et al, Clin Chem 1994; 40: 1284-90; Malle et al, Eur J Clin Invest 1996; 26: 427-35].

Erhöhte CRP- und SAA-Werte stehen im Zusammenhang mit einer Reihe von Erkrankungen, im Speziellen mit Entzündungen und entzündungsassoziierter Krankheiten, wie z.B. akut entzündliche, nekrotisierende und tumorartige Erkrankungen, akute Gewebsläsionen, bakterielle und virale Infektionen, rheumatische Erkrankungen wie rheumatoide Arthritis, Polyarthrit, Spondylarthritis ankylopoetica, Meningitis, Lungenentzündung, Pyelonephritis, akute Bronchitis, Tuberkulose, Sepsis und akute Pankreatitis, Morbus Alzheimer, post-

- operative Komplikationen, rheumatische Erkrankungen, maligne Tumoren, Abstossungsreaktionen, akute Herzinfarkte, Reiter- Syndrom, Arthropathia psoriatica, Colitis ulcerosa, Morbus Crohn, usw. Des weiteren können kardio- und cerebrovaskuläre Erkrankungen wie auch Adipositas, Diabetes mellitus, Urämie, Hypertonie, starke körperliche Belastung, Substitution von Hormonen, Schlafstörungen, Alkoholabusus, Morbus Alzheimer, Anämie oder Depressionen, Organtransplantationen, Auto-Immunerkrankungen und immunologische Krankheiten mit einer erhöhten Akute-Phase Antwort und entsprechend erhöhten SAA und CRP Werten einhergehen. Ausserdem kann es zu leichten, noch im Bereich des Normalwerts, aber trotzdem mit einem erhöhten Risiko für Komplikationen einhergehenden, Anstiegen der genannten Entzündungsmarker kommen, die zukünftig schon als Indikation zur Therapie angesehen werden können. Dazu gehört auch der mit dem Begriff "inflamm-aging" bezeichnete Prozess der parallel zum Altern zunehmenden Entzündungslast [Kushner I, Cleveland Clin J Med 2001; 68 (6): 535-37; Malle et al, Eur J Clin Invest 1996; 26: 427-35; Ridker et al, N Engl J Med 2000; 342: 836-43; Neumann et al, Pteridines 1998; 9: 113-21; Müller TF, Papst Science Publ., Lengerich 1999, 175 pp].
- Die Verwendung von Folaten zur Herstellung einer Zubereitung geeignet zur Vorbeugung oder zur Behandlung von Entzündungen und entzündungsassoziierter Krankheiten, im Speziellen zur Beeinflussung des Spiegels der Inflammationsmarker CRP und SAA, wurde bisher weder vorgeschlagen noch beschrieben.
- Es wurde nun überraschend gefunden, dass die Verwendung von Zubereitungen enthaltend Folate geeignet ist zur Behandlung und zur Vorbeugung von Entzündungen und entzündungsassoziierter Krankheiten, im Speziellen zur Beeinflussung des Spiegels der Inflammationsmarker CRP und SAA.



Als Folate eingesetzt werden können sowohl Pteroinsäure-Monoglutamat (Folsäure), wie auch reduzierte Formen wie Dihydrofolate und Tetrahydrofolate, deren Polyglutamate, deren optische Isomeren und deren pharmazeutisch  
5 verträgliche Salze. Bevorzugt eingesetzt als Folate sind Tetrahydrofolate, im Speziellen die natürlichen stereoisomeren Formen von Tetrahydrofolaten wie 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5,10-Methylen-(6R)-tetrahydrofolsäure, 5,10-Methenyl-(6R)-tetrahydrofolsäure, 10-Formyl-(6R)-tetrahydrofolsäure, 5-Formimino-(6S)-tetrahydrofolsäure oder  
10 (6S)-Tetrahydrofolsäure oder deren pharmazeutisch verträglichen Salze. Die verwendeten Folate können im Folatstoffwechsel in der Regel gegenseitig ineinander umgewandelt werden. Bevorzugt werden aber 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure und deren pharmazeutisch verträglichen Salze verwendet.

15 Pharmazeutisch verträgliche Salze sollten sowohl pharmakologisch wie auch pharmazeutisch verträglich sein. Solche pharmakologisch und pharmazeutisch verträgliche Salze können Alkali- oder Erdalkalimetall-Salze sein, vorzugsweise Natrium-, Kalium-, Magnesium- oder Calcium-Salze.

20 Zubereitungen beziehen sich auf enterale (z. B. oral, sublingual oder rektal), parenterale oder topische (z. B. transdermale) Formen. Als Träger können organische oder anorganische Substanzen verwendet werden, die nicht mit der aktiven Wirksubstanz reagieren, z. B. Wasser, Öl, Benzylalkohol, Polyethylenglycol, Glycerintriacetat oder andere Fettsäureglyceride, Gelatine, Lecithin,  
25 Cyclodextrine, Kohlenhydrate wie Lactobiose oder Stärke, Magnesiumstearat, Talk oder Cellulose. Bevorzugt bei der oralen Anwendung sind Tabletten, Dragées, Kapseln, Pulver, Sirup, Konzentrate oder Tropfen, für die rektale Anwendung bevorzugt sind Suppositorien, zur parenteralen Anwendung be-

vorzugt eingesetzt werden Lösungen, wasser- oder oelbasierend oder Lyophilisate.

Ebenfalls anwendbar sind Suspensionen, Emulsionen oder Implantate und für die topische Anwendung Pflaster oder Cremes.

- 5 Zubereitungen für die parenterale Anwendung beinhalten sterile wässrige und nichtwässrige Injektionslösungen der aktiven Verbindungen, die vorzugsweise isotonisch zum Blut des Empfängers sind.

- 10 Diese Zubereitungen können Stabilisatoren, Additive für die kontrollierte Freisetzung der pharmazeutisch aktiven Verbindungen, Antioxidantien, Puffer, Bakteriostatikas und Hilfsstoffe zur Einstellung einer isotonischen Lösung beinhalten. Wässrige und nichtwässrige sterile Suspensionen können Suspensionszusatzstoffe und Verdickungsmittel beinhalten. Die Zubereitung kann als Einfachdosis- oder als Mehrfachdosis-Behälter vorhanden sein, zum Beispiel
- 15 als verschweisste Ampullen und kann als gefriergetrocknetes (lyophilisiertes) Produkt gelagert und bei Bedarf mit steriler Flüssigkeit, zum Beispiel Wasser oder Salzlösung, für den Gebrauch vorbereitet werden. In derselben Art und Weise können auch steriles Pulver, Granulat oder Tabletten verwendet werden. Alle Zubereitungen können zusätzlich eine oder mehrere separat oder
- 20 synergistisch wirkende aktive Verbindungen enthalten. Im Speziellen sind dies Stoffe, die im Fولاتzyklus eine Rolle spielen, beziehungsweise den Fولاتzyklus beeinflussen oder eine zusätzliche antientzündliche Wirkung haben wie Vitamine, Antioxidantien wie Vitamin E oder Betacarotin, Radikalfänger, Biopterine und/oder andere Wirkstoffe. Beispiele sind Vitamin B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> oder
- 25 Vitamin C, Glutathion, Acetylcystein, Betain, Biopterine in allen Oxidationsstufen und isomeren Formen wie Biopterin, Im Speziellen L-erythro-Biopterin, 7,8-Dihydrobiopterin, 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin, im Speziellen L-Sepiapterin, D-Neopterin, Xanthopterin, 6-Hydroxymethylpterin. Zusätzlich zählen dazu die Lipidsenker wie Clofibrinsäurederivate (Fibrate), z.B. Clofibrat, Bezafibrat,

Etofibrat, Fenofibrat), Ionenaustauscherharze, z.B. Colestyramine oder Colestipol, Nikotinsäure (-derivate), z.B. Acipimox, Sitosterin und HMG-CoA-Reduktasehemmer, z.B. Atorvastatin, Lovastatin, Pravastatin, Simvastatin, Fluvastatin oder Cerivastatin. Zu den weiteren Substanzgruppen gehören

5 Immunsuppressiva wie Kortikosteroide, Mycophenolat, Mofetil, Rapamycin, Calcineurininhibitoren, mono- und polyklonale Antikörper; Wachstumsfaktoren wie Erythropoetin oder GM-CSF. Als weitere Substanzgruppe gehören zu diesen Stoffen nichtsteroidale anti-inflammatorische Substanzen wie Pentoxifyllin, Sulfasalazin, Gold, Aspirin, Omega-3 Fettsäuren, Thrombozytenaggregationshemmer wie Glykoprotein IIb/IIIa Rezeptor Inhibitoren, Hormone, Flavinoide oder weitere nichtsteroidale anti-inflammatorische Carboxylsäuren wie Aspirin, Salsalate, Diflunisal oder Cholin Magnesium Trisalicylsäure, oder

10 weitere nichtsteroidale anti-inflammatorische Propriensäuren wie Ibuprofen, Naproxen, Fenoprofen, Ketoprofen, Flurbiprofen oder Oxaprozin, oder weitere nichtsteroidale anti-inflammatorische Essigsäurederivate wie Indomethacin, Tolmetin, Sulindac, Diclofenac oder Etodolac, oder weitere nichtsteroidale anti-inflammatorische Fenamate wie Meclofenamat oder Mefenamic acid, oder

15 weitere nichtsteroidale anti-inflammatorische Enolsäurederivate wie Piroxicam oder Phenylbutazone, oder weitere nichtsteroidale anti-inflammatorische Naphthylkanones wie Nabumetone, sowie COX-2 Inhibitoren wie Celecoxib oder Rofecoxib. Ausserdem gehören dazu Substanzen mit antiinflammatorischer Wirkung wie Betablocker, Antikörper gegen Cytokine, z.B. anti-TNF-alpha Antikörper, oder Perfusionslösungen zur Organkonservierung wie Eurocollins, HTK oder University of Wisconsin (UW) Lösung.

25

Die Zubereitung beinhaltet zwischen 0.001 mg und 1'000 mg der aktiven Wirksubstanz pro Dosis. In der Prophylaxe werden Zubereitungen enthaltend vorzugsweise zwischen 5 µg und 1'000 µg der aktiven Wirksubstanz pro Dosis

eingesetzt. In der Therapie werden Zubereitungen enthaltend vorzugsweise zwischen 0.1 mg und 200 mg der aktiven Wirksubstanz pro Dosis eingesetzt. Die Dosierung hängt ab von der Therapieform, von der Anwendungsform der Zubereitung, vom Alter, Gewicht, der Ernährung und Zustand des Patienten.

5 Die Behandlung kann mit tiefer Dosierung unterhalb der optimalen Menge begonnen und bis zur Erreichung des optimalen Effektes gesteigert werden. Bevorzugt kann sich die Dosierungen in der Prophylaxe zwischen 5 µg und 5'000 µg pro Tag, im Speziellen zwischen 100 µg und 1'000 µg pro Tag bewegen. Optimale Dosierungen in der Therapie bewegen sich zwischen 0.1 mg

10 und 100 mg pro Tag, im Speziellen zwischen 0.5 mg und 5 mg pro Tag. Die Anwendung kann entweder als Einmal-Gabe oder als wiederholte Dosierung erfolgen.

Die Zubereitungen können zur Vorbeugung und Behandlung von Entzündungen und entzündungsassoziierten Krankheiten beim Menschen wie auch beim

15 Tier eingesetzt werden.

Auf Basis der vorangehenden Beschreibung kann ein Fachmann auf dem Gebiet ohne Weiteres die entscheidenden Elemente der Erfindung entnehmen

20 und ohne vom Grundgedanken und vom Umfang der Erfindung abzuweichen, Änderungen und Ergänzungen anbringen und dadurch die Erfindung an unterschiedliche Bedürfnisse und Bedingungen anpassen.

Die gesamte Offenbarung aller Anmeldungen, Patente und Publikationen, die in diesem Text zitiert sind, sind durch Referenz miteingeschlossen.

25 Die folgenden Beispiele können mit ähnlichem Erfolg durchgeführt werden durch Ersetzen der generisch oder spezifisch beschriebenen Produkte und/oder Verfahrensbedingungen dieser Erfindung durch solche, die in den folgenden Beispielen aufgeführt sind. Ebenso sind die folgenden spezifischen

Ausführungsformen rein beispielhaft und in keiner Art und Weise limitierend auf den Rest der Offenbarung zu sehen.

**Beispiele zur Illustrierung der Erfindung****Beispiel 1****Tablette enthaltend 1 mg 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure**

- 5 Eine Mischung von 13.3 g 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calciumsalz-Pentahydrat (entsprechend 10 g 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure), 4 kg Lactose, 1.2 kg Stärke, 0.2 kg Talk und 0.1 kg Magnesiumstearat werden zu Tabletten gepresst, so dass jede Tablette 1 mg 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure enthält.

10

Die Tablette kann beschichtet als Filmtablette oder gemahlen und in Kapseln abgefüllt verwendet werden.

**Beispiel 2**

- 15 **Suppositorien enthaltend 60 mg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure**

Eine Mischung von 632 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calciumsalz-Pentahydrat (entsprechend 500 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure), 50 g Hydroxypropylcellulose und 2 kg semisynthetische Glyceride werden zu Suppositorien geschmolzen, so dass jedes Suppositorium 500 mg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure enthält.

20

**Beispiel 3****Injektionslösung enthaltend 0.5 mg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure**

- 0.5 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 10 g Glutathion, 30 g Zitronensäure, 25 160 g Mannitol, 1 g Methyl-p-hydroxybenzoesäure, 17.7 g Natriumhydroxid (oder die notwendige Menge um einen pH-Wert der Lösung von 7.3 bis 7.8 einzustellen) werden auf 3 Liter Wasser zur Injektion gelöst und in Ampullen

abgefüllt, so dass jede Ampulle 0.5 mg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure enthält.

#### **Beispiel 4**

##### **5 Injizierbares Lyophilisat enthaltend 1 mg (6S)-Tetrahydrofolsäure**

Eine Lösung von 1 g (6S)-Tetrahydrofolsäure-Natriumsalz in 1'000 ml doppelt destilliertem Wasser wird in Ampullen sterilfiltriert und lyophilisiert, so dass jede Ampulle 1 mg (6S)-Tetrahydrofolsäure enthält.

- 10 Tetrahydrofolsäure ist sehr sauerstoffempfindlich, daher muss strikte sauerstoff-frei gearbeitet werden. Der Einsatz eines Oxidationsschutzmittels wie Ascorbinsäure kann notwendig sein.

#### **Beispiel 5**

##### **15 Injizierbares Lyophilisat enthaltend 20 mg 5,10-Methylen-(6R)-tetrahydrofolsäure**

Eine Lösung von 10 g  $\beta$ -Hydroxypropyl-Cyclodextrin-Einschlussverbindung von 5,10-Methylen-(6R)-tetrahydrofolsäure-Natriumsalz in 2'000 ml doppelt destilliertem Wasser wird in Ampullen sterilfiltriert, so dass jede Ampulle 20 mg

- 20 5,10-Methylen-(6R)-tetrahydrofolsäure enthält.

Für 5,10-Methylentetrahydrofolsäure gelten die gleichen Vorsichtsmassnahmen wie für Tetrahydrofolsäure (Beispiel 4).

#### **25 Beispiel 6**

##### **Tablette enthaltend 0.4 mg 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure**

Eine Mischung von 5.32 g 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calciumsalz-Pentahydrat (entsprechend 4 g 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure), 4 kg Lac-

tose, 1.2 kg Stärke, 0.2 kg Talk und 0.1 kg Magnesiumstearat werden zu Tabletten gepresst, so dass jede Tablette 4 mg 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure enthält.

- 5 Die Tablette kann beschichtet als Filmtablette oder gemahlen und in Kapseln abgefüllt verwendet werden.

### **Beispiel 7**

#### **Injizierbares Lyophilisat enthaltend 100 µg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure**

Eine Lösung von 100 mg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Natriumsalz in 1'000 ml doppelt destilliertem Wasser wird unter Schutzgas in Ampullen sterilfiltriert und lyophilisiert, so dass jede Ampulle 100 µg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure enthält.

15

Tetrahydrofolsäure ist sehr sauerstoffempfindlich, daher muss strikte sauerstoff-frei gearbeitet werden. Der Einsatz eines Oxidationsschutzmittels wie Ascorbinsäure kann notwendig sein.

### **Beispiel 8**

#### **Tablette enthaltend 15 mg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure**

Eine Mischung von 19.18 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure-Calciumsalz-Pentahydrat (entsprechend 15 g 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure), 120 g Lactose, 21.5 g Maisstärke, 7.08 g Acetylcellulose, 2.28 g Diethylphthalat, 0.64 g Silicone HK-15 und 2 g Magnesiumstearat werden zu Tabletten gepresst, so dass jede Tablette 15 mg 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure enthält.

Die Tablette kann beschichtet als Filmtablette oder gemahlen und in Kapseln abgefüllt verwendet werden.



**Beispiel 9****Tabletten enthaltend 15 mg 5-Methyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure**

In analoger Weise, wie im Beispiel 8 beschrieben, werden Tabletten enthaltend 15 mg 5-Methyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure mit Maisstärke, Milchzucker, Magnesiumstearat, Polyethylenglycol 6000, Polymetacrylat, Polysorbit 80, Dimethylpolysiloxan, Natriumhydroxid und Talk hergestellt.

**Beispiel 10****Tabletten enthaltend 15 mg 5-Formyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure**

In analoger Weise, wie im Beispiel 8 beschrieben, werden Tabletten enthaltend 15 mg 5-Formyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure mit Maisstärke, Milchzucker, Magnesiumstearat, Polyethylenglycol 6000, Polymetacrylat, Polysorbit 80, Dimethylpolysiloxan, Natriumhydroxid und Talk hergestellt.

**Beispiel 11****Kombinationspräparat aus 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, Vitamin B<sub>6</sub> und Vitamin B<sub>12</sub>**

Für Präparate zur oralen Anwendung wird eine Filmtablette formuliert, die folgende Bestandteile enthält:

10	mg	5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure
100	mg	Vitamin B <sub>6</sub>
1	mg	Vitamin B <sub>12</sub>
25		pharmazeutisch verträgliche Hilfsstoffe

Das Kombinationspräparat kann auch als Lösung z. B. für die parenterale Anwendung formuliert werden.

**Beispiel 12****Basisvitaminpräparat enthaltend u.a. 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure**

Für Präparate zur oralen Anwendung wird eine Filmtablette formuliert, die folgende Bestandteile enthält:

	0.4	mg	5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure
	3	mg	Vitamin B <sub>1</sub>
	1.7	mg	Vitamin B <sub>2</sub>
10	10	mg	Vitamin B <sub>6</sub>
	0.006	mg	Vitamin B <sub>12</sub>
	60	mg	Vitamin C
	0.3	mg	Biotin
	20	mg	Nicotinamid
15	10	mg	Pantothensäure
			pharmazeutisch verträgliche Hilfsstoffe

Das Kombinationspräparat kann auch als Lösung z. B. für die parenterale Anwendung formuliert werden.

20

**Beispiel 13****Kombinationspräparat enthaltend u.a. 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure und Betain**

Analog zu den Beispielen 11 und 12 wird ein Kombinationspräparat hergestellt, enthaltend zusätzlich zur für die entsprechende Anwendung üblichen Menge an 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure auch die für diese Anwendung übliche Menge an Betain.

25

**Beispiel 14****Kombinationspräparat enthaltend u.a. 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure und Tetrahydrobiopterin**

5 Analog zu den Beispielen 11 und 12 wird ein Kombinationspräparat hergestellt, enthaltend zusätzlich zur für die entsprechende Anwendung üblichen Menge an 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure auch die für diese Anwendung übliche Menge an Tetrahydrobiopterin.

**Beispiel 15**

10 **Kombinationspräparat enthaltend u.a. 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure und Statine**

Analog zu den Beispielen 11 und 12 wird ein Kombinationspräparat hergestellt, enthaltend zusätzlich zur für die entsprechende Anwendung üblichen Menge an 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure auch die für diese Anwendung  
15 übliche Menge an Statinen wie z.B. Atorvastatin, Lovastatin, Pravastatin, Simvastatin, Fluvastatin oder Cerivastatin.

**Beispiel 16**

20 **Kombinationspräparat enthaltend u.a. 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure und Aspirin**

Analog zu den Beispielen 11 und 12 wird ein Kombinationspräparat hergestellt, enthaltend zusätzlich zur für die entsprechende Anwendung üblichen Menge an 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure auch die für diese Anwendung übliche Menge an Aspirin.

**Beispiel 17****Kombinationspräparat enthaltend u.a. 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure und zusätzliche Wirkstoffe**

Analog zu den Beispielen 11 und 12 wird ein Kombinationspräparat hergestellt, enthaltend zusätzlich zur für die entsprechende Anwendung üblichen Menge an 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure auch die für diese Anwendung übliche Menge an Vitamin B<sub>2</sub>, Vitamin B<sub>6</sub>, Vitamin B<sub>12</sub> oder Vitamin C, Glutathion, Acetylcystein, Pentoxifyllin, Omega-3 Fettsäuren, Vitamin E, Thrombozytenaggregationshemmer wie Glykoprotein IIb/IIIa Rezeptor Inhibitoren, Beta-blocker, Hormone, Flavinoide oder weitere nichtsteroidale anti-inflammatorische Substanzen wie Ibuprofen, Indomethacin, Diclofenac, Piroxicam, COX-2 Inhibitoren oder Immunsuppressiva, Perfusionslösungen oder anti-inflammatorisch wirksame Antikörper.

**15 Ermittlung klinischer Daten**

Klinische Daten wurden über die im Folgenden beschriebene, prospektive, randomisierte Doppelblind-Studie erhalten.

141 PatientInnen mit terminaler Niereninsuffizienz und einer Behandlung mit chronischer Hämodialyse an 3 Tagen pro Woche im Alter zwischen 24 und 90 Jahren wurden anhand des PatientInnengeschlechtes und des Vor- bzw. Nichtvorliegens einer Punktmutation C677T auf dem Gen für die Methylenetetrahydrofolat-Reduktase randomisiert in 4 Therapiegruppen zugeteilt. Die Randomisierung aufgrund der Methylenetetrahydrofolat-Reduktase Mutation sollte verhindern, dass ein Ungleichgewicht innerhalb der einzelnen Therapiegruppen hinsichtlich der Enzymaktivität und somit auch des Folsäuremetabolismus entstand.

Alle PatientInnen erhielten als Basisvitaminsupplementierung täglich eine Filmtablette mit der folgenden Zusammensetzung:

	Vitamin B <sub>1</sub>	3	mg
5	Vitamin B <sub>2</sub>	1,7	mg
	Vitamin B <sub>6</sub>	10	mg
	Vitamin B <sub>12</sub>	6	µg
	Vitamin C	60	mg
	Biotin	0,3	mg
10	Folsäure	1	mg
	Nicotinamid	20	mg
	Pantothensäure	10	mg

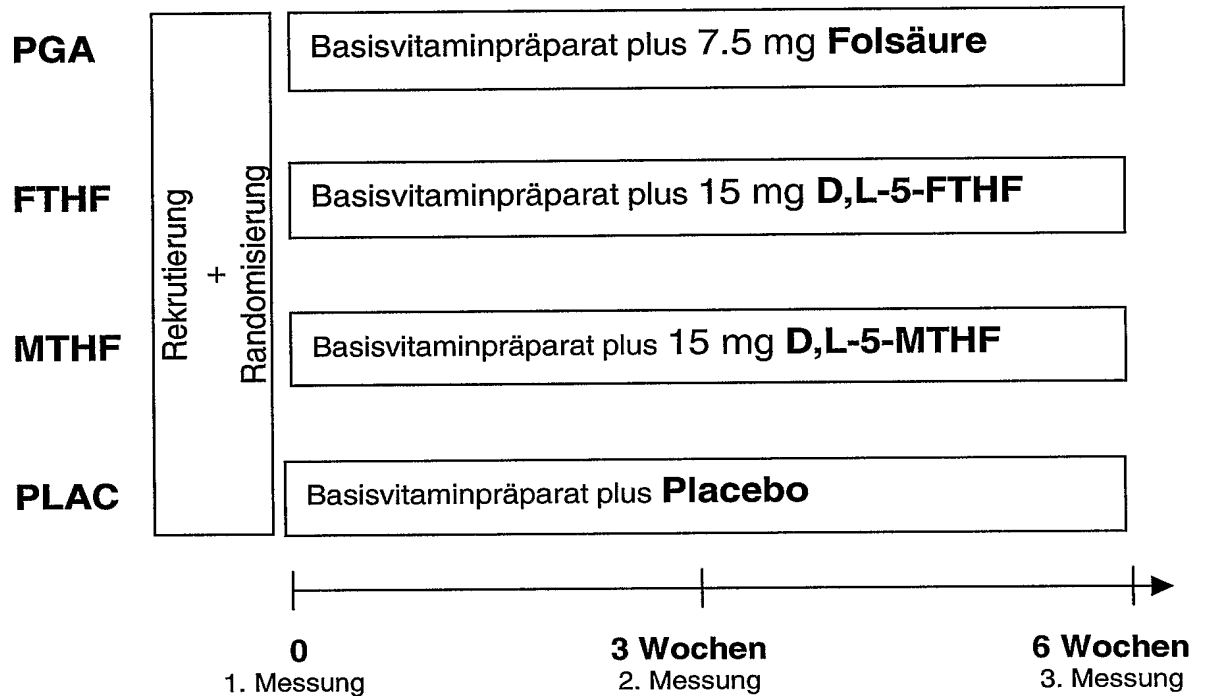
Die Vitamine B<sub>6</sub> (Pyridoxin) und B<sub>12</sub> (Cobalamin) spielen als Cofaktoren im Folsäuremetabolismus eine wichtige Rolle. Sie sollten deshalb ebenfalls supplementiert werden, zum einen zur Erhöhung der Wirksamkeit der Folate und zum anderen, um eine neurologische Schädigung durch Vitamin B<sub>12</sub> Mangel zu vermeiden [Bostom et al, Kidney Int 1997; 52: 10-20; Homocysteine lowering trialists' collaboration, BMJ 1998; 316: 894-8, Bostom et al, Circulation 2000; 101: 2829-32].

Bei sämtlichen StudienpatientInnen wurde bereits bei Beginn der Studie durch die oben genannte Basisvitaminsubstitution ein einheitlicher Vitaminstatus erzielt und ausgeprägte Vitaminmangelzustände vermieden.

Wie folgend graphisch dargestellt erhielten die PatientInnen zusätzlich zur bereits bestehenden Basisvitaminpräparation über insgesamt 6 Wochen

- Gruppe PGA 7.5 mg Folsäure pro Tag
- Gruppe FTHF 15 mg 5-Formyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure pro Tag

- Gruppe MTHF 15 mg 5-Methyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure pro Tag
- Gruppe PLAC Placebo

**Gruppe**

5

Die erste Blutentnahme im Rahmen der Studie erfolgte vor Beginn der zusätzlichen Vitamingabe. Die zweite Blutprobe wurde 3 Wochen nach Beginn und die dritte zum Abschluss der Studie, d.h. nach 6 Wochen entnommen.

- 10 Die folgenden Messgrößen wurden bei den 3 Blutentnahmen jeweils aus Plasmaproben bestimmt:

- Homocystein (totales) (Hcys)
- Gesamtfolate (Fol)
- Vitamin B<sub>12</sub> (B12)
- Vitamin B<sub>6</sub> (B6)
- 5 • Neopterin (NEOP)
- Kreatinin (Krea)
- LDL- und HDL-Cholesterin (HDL-Chol, LDL-Chol)
- Triglyzeride (TG)
- C-reaktives Protein (CRP)
- 10 • Amyloid A Protein (SAA)

Es wurden die Parameter Homocystein, Gesamtfolate sowie Vitamin B<sub>6</sub> und B<sub>12</sub> im Plasma der PatientInnen bestimmt. Wegen der bekannten Assoziation zwischen Arteriosklerose und Lipidstoffwechsel erfolgte zusätzlich die Mes-  
15 sung der Triglyzeride und Cholesterinfraktionen LDL und HDL. Zusätzlich wurde in den Plasmaproben Neopterin als Parameter einer Immunantwort gemessen. Als Marker für eine inflammatorische Antwort wurde, wie oben ausgeführt, CRP und SAA bestimmt.

Die Blutentnahme erfolgte jeweils zu Beginn der Dialysebehandlung über die  
20 liegende Dialylenadel. Pro Blutentnahme wurden für die Untersuchungen insgesamt 30 ml Vollblut abgenommen.

### **Ergebnisse der klinischen Studie**

Im Folgenden werden die Studienergebnisse in Bezug auf die inflammatori-  
25 schen Marker CRP und SAA dargestellt.

Die drop-out Rate lag bei 14.9%, d.h. von den insgesamt 141 PatientInnen, die in die Randomisierung eingingen, haben 121 die Studie abgeschlossen. Bei der Auswertung werden sämtliche erhobenen Messwerte berücksichtigt.

- 5 Neben deskriptiver Statistik wurden insbesondere die parametrischen Testverfahren ANOVA (Analysis of Variance), Student t-Test, Korrelations- und 'matched pair' Analysen mit dem JMP-SAS Statistikpaket durchgeführt.

### Verteilung der Basischarakteristika

- 10 Die folgende Tabelle 1 zeigt eine Übersicht zu den wesentlichen Laborwerten sowie deren Verteilung, Mittelwert und Bereich bzw. Standardabweichung vor Beginn der Folattherapie.

Tabelle 1

Gruppe	Gesamt	FTHF	MTHF	PGA	PLAC	Prob>F <sup>3</sup>
<b>Zahl [n]</b>	<b>141</b>	<b>37</b>	<b>35</b>	<b>36</b>	<b>33</b>	
<b>Frauen [n]</b>	<b>57</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	
<b>Alter [a]<sup>1</sup></b>	<b>64</b> 24 – 90	<b>60</b> 24 - 89	<b>68</b> 44 – 90	<b>67</b> 43 - 87	<b>60</b> 37 - 80	
<b>Hcys [<math>\mu\text{mol/l}</math>]<sup>2</sup></b>	<b>28.8</b> 13.9	<b>30.3</b> 13.5	<b>28.5</b> 12.7	<b>27.7</b> 13.4	<b>28.3</b> 16.3	0.87
<b>Folat [nmol/l]<sup>2</sup></b>	<b>75.2</b> 68.5	<b>62.3</b> 64.8	<b>80.9</b> 58.4	<b>84.6</b> 93.2	<b>72.6</b> 46.7	0.53
<b>CRP [mg/l]<sup>2</sup></b>	<b>14.1</b> 24.7	<b>16.3</b> 38.4	<b>18.9</b> 21.9	<b>9.6</b> 8.6	<b>11.3</b> 18.2	0.37
<b>SAA [mg/l]<sup>2</sup></b>	<b>23.9</b> 71.7	<b>28.4</b> 103	<b>34.5</b> 72.7	<b>11.2</b> 15.5	<b>21.3</b> 65.2	0.56
<b>NEOP [<math>\mu\text{mol/mol}</math> crea]<sup>2</sup></b>	<b>185</b> 185	<b>162</b> 111	<b>174</b> 95	<b>238</b> 326	<b>164</b> 88	0.28

15

<sup>1</sup> Mittelwert und Bereich

<sup>2</sup> Mittelwert und Standardabweichung

<sup>3</sup> ANOVA



Sowohl in der ANOVA als auch im Student t-Test ergaben sich für keinen der dargestellten Parameter für die Ausgangswerte signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Therapiegruppen. Damit war die Randomisierung erfolgreich.

### Höhe der Akute-Phase Proteine bei den untersuchten DialysepatientInnen

CRP und SAA wurden beide mittels Immunnephelometrie und Tests der Firma DadeBehring (N High Sensitivity CRP und N Latex SAA assays) gemessen. Die für die verwendeten Tests ermittelten Referenzwerte für Gesunde sind:  
CRP – 1.6 mg/l Mittelwert, 1.1 mg/l Median, 5 mg/l 95% Perzentile  
SAA – 2.6 mg/l Mittelwert, 2.0 mg/l Median, 6.8 mg/l 95% Perzentile.  
Die untersuchten DialysepatientInnen zeigen im Mittel ca. 10-fach erhöhte SAA bzw. CRP-Werte.

### Korrelationen zwischen den einzelnen Parametern

Eine Korrelationsanalyse für die Ausgangswerte von CRP und SAA ergab die in der folgenden Tabelle 2 dargestellten Werte.

Tabelle 2

	Pearson	p-Wert
SAA vs. CRP	0.912	***

\*\*\* i.e. p-Wert <0.001

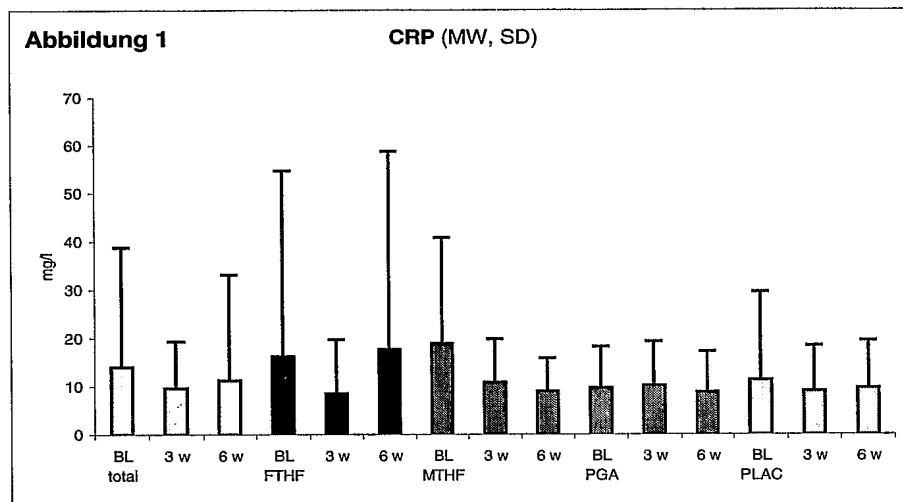
Wie dargestellt korrelieren die Akute-Phase Proteine SAA und CRP hochsignifikant. Dagegen ergaben sich keine Korrelationen zwischen den Ausgangswerten von Neopterin und CRP bzw. SAA. Ebenso wenig korrelierten die

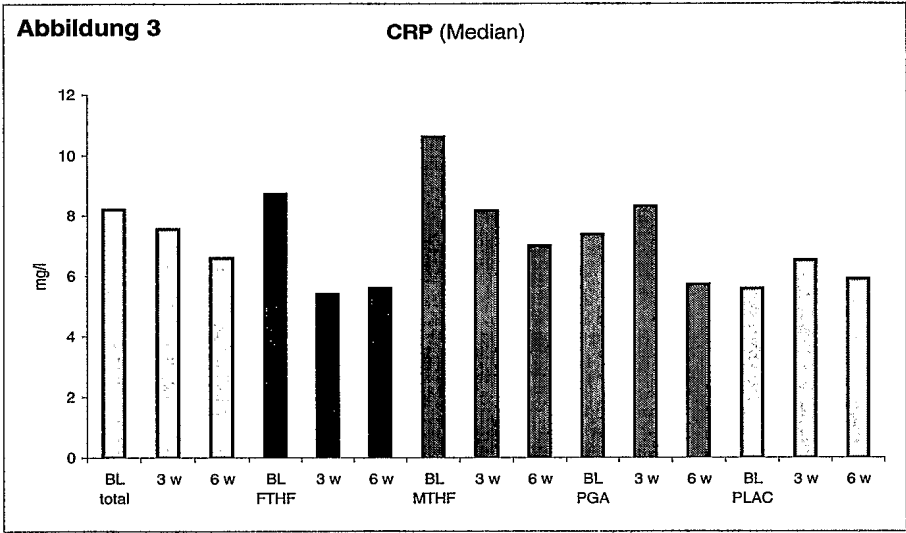
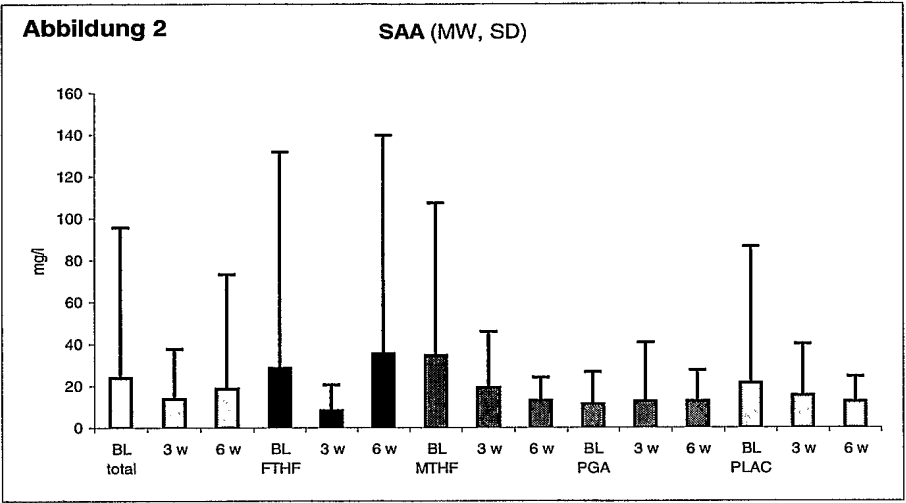
Homocystein- und Folatwerte vor Therapie mit den Entzündungsmarkern (Daten nicht dargestellt).

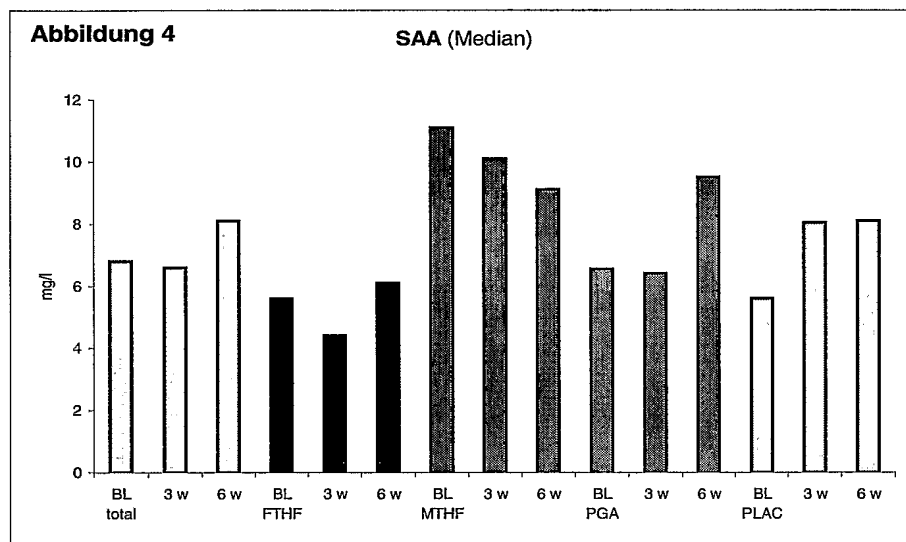
### Effekte der Folattherapie auf die Parameter

- 5 Die Effekte der Folattherapie werden im Folgenden zunächst als Histogramm dargestellt.

Die Abbildungen 1 und 2 zeigen als Balkenhistogramm die Mittelwerte und Standardabweichungen der untersuchten Parameter für die verschiedenen Therapiegruppen zu Beginn der Studie (BL baseline), nach 3 Wochen (3 w) und 6 Wochen (6 w) Folatgabe. Zusätzlich sind die Medianwerte im Therapieverlauf graphisch in den Abbildungen 3 und 4 dargestellt. Die Messwerte sind zusätzlich tabellarisch in Tabelle 3 dargestellt.





**Tabelle 3**

	total			FTHF			MTHF			PGA			PLAC		
	BL	3 w	6 w	BL	3 w	6 w	BL	3 w	6 w	BL	3 w	6 w	BL	3 w	6 w
<b>CRP [n]</b>	139	114	119	37	28	30	35	29	30	36	31	31	31	26	28
<b>MW</b>	14	10	11	16	9	18	19	11	9	10	10	9	11	9	10
<b>SD</b>	25	10	22	38	11	41	22	9	7	9	9	9	18	9	10
<b>Median</b>	8	8	7	9	5	6	11	8	7	7	8	6	6	7	6
<b>SAA [n]</b>	139	118	115	37	30	30	35	30	29	36	32	29	31	26	27
<b>MW</b>	24	14	19	28	8	35	34	19	13	11	12	13	21	15	13
<b>SD</b>	72	24	55	103	12	104	73	27	11	15	28	15	65	25	12
<b>Median</b>	7	7	8	6	4	6	11	10	9	7	6	10	6	8	8

- 5 Für die PatientInnen, bei denen für jeden Zeitpunkt sämtliche Messwerte komplett erhoben werden konnten, wurde zusätzlich eine 'matched pair' Analyse durchgeführt. Dabei wurde jeweils für den einzelnen Patienten paarweise die Werte vor mit denen unter Therapie nach 3 und 6 Wochen verglichen. Tabelle 4 stellt die ermittelten Unterschiede für die inflammatorischen Marker und für Homocystein (HCYS) dar.
- 10

Tabelle 4

	Gesamt <sup>4</sup>			FTHF			MTHF			PGA			PLAC		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Hcys	***	***	Ø	*	**	Ø	Ø	*	Ø	*	*	Ø	Ø	Ø	Ø
CRP	**	**	Ø	*	Ø	Ø	*	**	*	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
SAA	*	Ø	Ø	*	Ø	*	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	*	Ø	Ø	Ø

<sup>1</sup> BL vs 3 w, Vergleich zwischen Ausgangswert und 3 Wochenwert

<sup>2</sup> BL vs 6 w, Vergleich zwischen Ausgangswert und 6 Wochenwert

5 <sup>3</sup> 3 w vs 6 w, Vergleich zwischen 3 und 6 Wochenwert

<sup>4</sup> Gesamt, d.h. alle Daten bis auf die Werte der Placebogruppe

\* ie.  $p < 0.05$ , \*\* ie.  $p < 0.01$ , \*\*\* ie.  $p < 0.0001$

10 Wie auch in den Abbildungen 1 bis 4 dargestellt, zeigen die Entzündungsmarker CRP und SAA einen teilweise signifikanten Abfall unter der Folattherapie. Dabei scheinen die reduzierten Folate einen stärkeren Effekt zu erreichen. CRP reagiert am deutlichsten. Bei der Placebogruppe ändern sich CRP und SAA im Studienverlauf nicht.

## 15 **Schlussfolgerungen aus der klinischen Studie**

PatientInnen mit chronischer Niereninsuffizienz und Hämodialysebehandlung haben eine erhöhte inflammatorische Last, charakterisiert und in der vorliegenden Studie bestätigt durch deutlich pathologische CRP und SAA-Werte. Eine Korrelation mit den ebenfalls erhöhten Homocysteinwerten konnte nicht  
20 festgestellt werden und es scheint sich demnach um zwei unabhängige Prozesse zu handeln.

Die Therapie mit Folaten induziert im Trend, teilweise sogar statistisch signifikant, einen Abfall insbesondere der CRP-Spiegel. Die mit 5-Methyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure behandelten PatientInnen zeigen den stärksten Abfall bei  
25 den Entzündungsmarkern.

Der Einfluss von Folaten auf Akute-Phase Parameter ist umso überraschen-  
der, als bei der kleinen Zahl und sehr kurzen Studien- und damit Therapie-  
dauer Trends und teilweise sogar signifikante Effekte beobachtet werden kön-  
5 nen.

Folate, insbesondere reduzierte Folate, im Speziellen MTHF, senken, ähnlich  
den Statinen, die Akute-Phase Antwort, abzulesen an CRP und SAA und ha-  
ben deshalb eine anti-inflammatorische Wirkung – akut und chronisch.

10

**Patentansprüche**

- 1      Verwendung von Folaten zur Herstellung einer pharmazeutischen Zube-  
5      reitung geeignet zur Vorbeugung und Behandlung von Entzündungen  
und entzündungsassoziierten Krankheiten.
- 2      Verwendung von Folaten zur Herstellung einer pharmazeutischen Zube-  
reitung geeignet zur Beeinflussung von CRP- und/oder SAA-Spiegeln.
- 10    3      Verwendung von Folaten gemäss den Ansprüchen 1 bis 2, dadurch ge-  
kennzeichnet, dass als Folat Pteroinsäure-Monoglutamat (Folsäure),  
Dihydrofolsäure, 5-Formyltetrahydrofolsäure, 5-Methyltetrahydrofolsäure,  
5,10-Methylenetetrahydrofolsäure, 5,10-Methenyltetrahydrofolsäure, 10-  
15    Formyltetrahydrofolsäure oder Tetrahydrofolsäure, deren Polyglutamate,  
deren optische Isomeren, im Speziellen deren optische reine natürliche  
Isomeren, aber auch Mischungen von optischen Isomeren, insbesondere  
racemische Mischungen, sowie auch deren pharmazeutisch verträgliche  
Salze eingesetzt werden.
- 20    4      Verwendung von Folaten gemäss den Ansprüchen 1 bis 2, dadurch ge-  
kennzeichnet, dass als Folat 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure, 5-Methyl-  
(6R,S)-tetrahydrofolsäure, 5-Formyl-(6S)-tetrahydrofolsäure oder  
5-Formyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure, oder ein pharmazeutisch verträgli-  
ches Salz davon eingesetzt wird.
- 25    5      Verwendung von Folaten gemäss den Ansprüchen 1 bis 2, dadurch ge-  
kennzeichnet, dass als Folat 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure oder  
5-Methyl-(6R,S)-tetrahydrofolsäure, oder ein pharmazeutisch verträgli-  
ches Salz von 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure oder 5-Methyl-(6R,S)-

tetrahydrofolsäure eingesetzt wird und die Anwendung bei Methylen-tetrahydrofolat-Reductase-Anomalie erfolgt.

- 6 Eine Methode zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Entzündungen  
5 und entzündungsassoziierter Krankheiten dadurch gekennzeichnet, dass  
mindestens ein Folat oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz eines  
Folates, während einer Zeit und unter Bedingungen ausreichend zur Re-  
duktion, Verlangsamung des Ansteigens oder sonstigen Beeinflussung  
von CRP- oder SAA-Spiegeln, oder den Spiegeln eines Derivates oder  
10 Homologen eingesetzt wird.
- 7 Pharmazeutische Zusammensetzung zur Reduktion, Verlangsamung des  
Ansteigens oder sonstigen Beeinflussung von Entzündungen und ent-  
zündungsassoziierter Krankheiten durch Hemmung, Inhibierung oder  
15 sonstige Reduktion von CRP- oder SAA-Spiegeln, oder den Spiegeln  
eines Derivates oder Homologen, dadurch gekennzeichnet, dass als  
aktive Wirksubstanz mindestens ein Folat oder ein pharmazeutisch ver-  
trägliches Salz eines Folates beinhaltet ist.
- 20 8 Pharmazeutische Zusammensetzung zur Beeinflussung von CRP-  
und/oder SAA-Spiegeln, dadurch gekennzeichnet, dass sie als aktive  
Wirksubstanz mindestens eine Verbindung beinhaltet, die ausgewählt ist  
aus der Gruppe bestehend aus Pteroinsäure-Monoglutamat (Folsäure),  
Dihydrofolsäure, 5-Formyltetrahydrofolsäure, 5-Methyltetrahydrofolsäure,  
25 5,10-Methylen-tetrahydrofolsäure, 5,10-Methenyltetrahydrofolsäure, 10-  
Formyltetrahydrofolsäure oder Tetrahydrofolsäure, deren Polyglutamate,  
deren optische Isomeren, im Speziellen deren optische reine natürliche  
Isomeren, aber auch Mischungen von optischen Isomeren, insbesondere  
racemische Mischungen, sowie auch deren pharmazeutisch verträgliche



Salze, zusammen mit pharmazeutisch verträglichen Wirk- und Hilfsstoffen.

- 9 Pharmazeutische Zusammensetzung zur Beeinflussung von CRP-  
5 und/oder SAA-Spiegeln bei vorhandener Methylentetrahydrofolat-  
Reductase-Anomalie, dadurch gekennzeichnet, dass sie als aktive  
Wirksubstanz 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure oder 5-Methyl-(6R,S)-  
tetrahydrofolsäure, oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz von  
10 5-Methyl-(6S)-tetrahydrofolsäure oder 5-Methyl-(6R,S)-tetrahydrofol-  
säure, zusammen mit pharmazeutisch verträglichen Wirk- und Hilfsstof-  
fen beinhaltet.
- 10 Pharmazeutische Zusammensetzung gemäss den Ansprüchen 7 bis 9  
beinhaltend zusätzlich mindest ein Vitamin aus der B-Gruppe.
- 15 11 Pharmazeutische Zusammensetzung gemäss Anspruch 10 dadurch ge-  
kennzeichnet, dass als Vitamin aus der B-Gruppe Vitamin B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>  
und/oder B<sub>12</sub> beinhaltet ist.
- 20 12 Pharmazeutische Zusammensetzung gemäss den Ansprüchen 7 bis 11  
beinhaltend zusätzlich mindestens ein Antioxidans oder einen Radikal-  
fänger.
- 25 13 Pharmazeutische Zusammensetzung gemäss Anspruch 12 dadurch ge-  
kennzeichnet, dass als Antioxidans oder Radikalfänger Vitamin C oder  
reduziertes Glutathion beinhaltet ist.

- 14 Pharmazeutische Zusammensetzung gemäss den Ansprüchen 7 bis 13  
beinhaltend zusätzlich zu den Folaten als einen weiteren Wirkstoff  
Tetrahydrobiopterin.
- 5 15 Pharmazeutische Zusammensetzung gemäss den Ansprüchen 7 bis 14  
beinhaltend zusätzlich zu den Folaten als einen weiteren Wirkstoff  
Omega-3 Fettsäuren.
- 10 16 Pharmazeutische Zusammensetzung gemäss den Ansprüchen 7 bis 15  
beinhaltend zusätzlich zu den Folaten mindestens einen weiteren Wirk-  
stoff.
- 15 17 Pharmazeutische Zusammensetzung gemäss Anspruch 16 dadurch ge-  
kennzeichnet, dass als weiterer Wirkstoff Statine, Acetylcystein, Pento-  
xifyllin oder Aspirin beinhaltet ist.
- 20 18 Pharmazeutische Zusammensetzung gemäss Anspruch 16 dadurch ge-  
kennzeichnet, dass als weiterer Wirkstoff Betain, Pentoxifyllin, Vitamin E,  
Thrombozytenaggregationshemmer wie Glykoprotein IIb/IIIa Rezeptor In-  
hibitoren, Beta-blocker, Hormone, Flavinoide, Lipidsenker oder weitere  
nichtsteroidale anti-inflammatorische Substanzen beinhaltet ist.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 03/01848

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/194 A61K31/196 A61K31/4985 A61K31/519

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01 91734 A (MERCK PATENT GMBH ;FROHNE MARCUS (DE); MEDUSKI JERZY (DE); BUCHHOL) 6 December 2001 (2001-12-06) claims 1,14,19,28,33,43 -----	1-3,7-9, 11-14
X	WO 01 85178 A (HAGEMAN ROBERT JOHAN JOSEPH ;NUTRICIA NV (NL); VERLAAN GEORGE (NL)) 15 November 2001 (2001-11-15) claims 1,19; examples -----	1-3,7-9, 11-14



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \* & \* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 July 2003

Date of mailing of the international search report

11/07/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Beyss, E

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP03/01848

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
  
Although Claim 7 relates to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out on the basis of the alleged effects of the compound or composition.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/01848

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0191734	A	06-12-2001	AU 7566601 A	11-12-2001
			WO 0191734 A2	06-12-2001
			EP 1286667 A2	05-03-2003
WO 0185178	A	15-11-2001	US 6420342 B1	16-07-2002
			AU 5685601 A	20-11-2001
			EP 1282426 A1	12-02-2003
			WO 0185178 A1	15-11-2001
			US 2002183263 A1	05-12-2002

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/01848

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K31/194 A61K31/196 A61K31/4985 A61K31/519

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 01 91734 A (MERCK PATENT GMBH ;FROHNE MARCUS (DE); MEDUSKI JERZY (DE); BUCHHOL) 6. Dezember 2001 (2001-12-06) Ansprüche 1,14,19,28,33,43 ---	1-3,7-9, 11-14
X	WO 01 85178 A (HAGEMAN ROBERT JOHAN JOSEPH ;NUTRICIA NV (NL); VERLAAN GEORGE (NL)) 15. November 2001 (2001-11-15) Ansprüche 1,19; Beispiele -----	1-3,7-9, 11-14



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*G\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

3. Juli 2003

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

11/07/2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Beyss, E

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP 03/01848

## Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich  
  
Obwohl der Anspruch 7 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. ☐ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.  
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

## Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

### Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationaler Aktenzeichen

PCT/EP 03/01848

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 0191734 A	06-12-2001	AU 7566601 A	11-12-2001
		WO 0191734 A2	06-12-2001
		EP 1286667 A2	05-03-2003
WO 0185178 A	15-11-2001	US 6420342 B1	16-07-2002
		AU 5685601 A	20-11-2001
		EP 1282426 A1	12-02-2003
		WO 0185178 A1	15-11-2001
		US 2002183263 A1	05-12-2002